

Z. klin. Chem. u. klin. Biochem.
8. Jg., S. 212—217, Mai 1970

Die Qualitätskontrolle von Enzymaktivitätsbestimmungen im Serum¹⁾

Von G. SZASZ

Aus dem Institut für Klinische Chemie an den Universitätskliniken Gießen

(Direktor: Prof. Dr. L. Röka)

(Eingegangen am 10. Februar 1970)

Die Ergebnisse der Qualitätskontrolle bei der Bestimmung der Aktivität von 7 Enzymen²⁾ (Aspartat- und Alanintransaminase, Kreatinkinase, Lactat- und α -Hydroxybutyratdehydrogenase, Alkalische Phosphatase und Leucinaminopeptidase) werden beschrieben. Sie beruht auf Bestimmungen in mehreren käuflichen Testseren und auf wiederholten Messungen in Patientenseren vom Vortag. Die Messung der Aktivitäten erfolgte kinetisch im Mikrolitermaßstab.

Die Präzision in der Serie schwankte bei käuflichen Testseren zwischen 2 und 7%. Die Präzision von Tag zu Tag war bei unbekannten Testseren mit einem Faktor von 2—3 schlechter. Bei Wiederholungen in Patientenseren ergab sich im diagnostisch interessantesten Grenzbereich eine Präzision von 7—15%. Die Präzision war bei manchen Enzymen (Aspartat- und Alanintransaminase, Kreatinkinase) von der Höhe der Aktivität stark abhängig; die Gründe dafür werden diskutiert. Vergleiche mit bekannten und unbekannten Kontrollproben ergaben eine wesentlich bessere Präzision bei Freigabe des Sollwertes.

Die Haltbarkeit der aufgelösten Testseren bei verschiedenen Temperaturen wird beschrieben. Es werden praktische Vorschläge zur routinemäßigen Qualitätskontrolle im Enzymlaboratorium unterbreitet, die sowohl die Frage der Richtigkeit als auch der Präzision berücksichtigen.

The quality control of enzyme activity measurements in serum

Results are presented from quality control in the determination of serum enzymes, aspartate and alanine transaminase, creatine kinase, lactate and α -hydroxybutyrate dehydrogenase, alkaline phosphatase and leucine aminopeptidase. They are based on determinations performed on several commercially available test sera, and on repeated measurements on sera taken from patients on the previous day. The activities were measured kinetically on microliter quantities.

With commercial test sera, the precision in the series varied between 2 and 7%. Day to day determinations on unknown test sera showed a decrease in precision by a factor of 2—3. Repeated measurements on patients' sera showed a precision of 7—15% in the range of greatest diagnostic value. For some enzymes (aspartate and alanine transaminase, creatine kinase), the precision depended greatly on the activity; reasons for this are discussed. Comparisons with known and unknown test samples gave an essentially better precision, when the known values were given.

The effect of temperature on the stability of dissolved test sera is described. Practical recommendations are made for the routine quality control in the enzyme laboratory, which take into consideration both accuracy and precision.

Die Qualitätskontrolle hat im letzten Jahrzehnt eine allgemeine Verbreitung in den klinisch chemischen Laboratorien gefunden. Die meisten der zahlreichen Publikationen auf diesem Gebiet gehen jedoch auf die Enzymaktivitätsbestimmungen entweder überhaupt nicht (1—12) oder nur am Rande (13—16) ein. Im allgemeinen sind sich die Autoren einig, daß die Standardisierung der Enzymaktivitätsbestimmungen wesentlich schwieriger ist als die der Konzentrationsmessung verschiedener anorganischer und organischer Substanzen (15, 17—21). Da in unserem Zentrallaboratorium von 4 Untersuchungen mindestens eine Enzymaktivitätsbestimmung ist, erschien uns die Qualitätskontrolle auch im Enzymlaboratorium unerlässlich.

Seit 1966 führen wir routinemäßig eine Qualitätskontrolle im Enzymlaboratorium durch. Sie stützt sich teilweise auf Bestimmungen in käuflichen Testseren

und teilweise auf wiederholte Messungen in Patientenseren vom Vortag. Für diesen Bericht wurde die Qualitätskontrolle des Enzymlaboratoriums von einem halben Jahr (1. 4.—30. 9. 1969) ausgewertet. An 4 Arbeitsplätzen wechselten sich während dieser Zeit 9 med. techn. Assistentinnen ab und es wurden rund 60000 Bestimmungen durchgeführt. Die Kontrollproben wurden grundsätzlich als reguläre Anforderungen in das Labor eingeschleust; daß es sich um Testseren handelt, war den Untersuchern nicht bekannt.

In einer zweiten Periode von 7 Wochen wurde die Qualitätskontrolle mit bekannten Test- bzw. Patientenseren fortgesetzt. Die Präzision in der ersten und zweiten Periode wird miteinander verglichen.

Die Präzision einer Bestimmungsart ist außer von der apparativen Einrichtung auch von der genauen Arbeitsvorschrift abhängig. Sie ist also immer nur für eine bestimmte Methode charakteristisch. Deshalb muß unseren Erfahrungen mit der Qualitätskontrolle im Enzymlaboratorium eine kurze Beschreibung der Methoden vorausgeschickt werden.

Methodik

Geräte

Eppendorf-Photometer mit Küvettenwechselausrüstung (temperierbare Küvettenhalter mit 6 Küvetten) und Registriereinrichtung,

¹⁾ Der Inhalt dieser Arbeit wird auszugsweise auf der Tagung Biochemische Analytik in München (29. 4.—2. 5. 1970) vorgetragen.

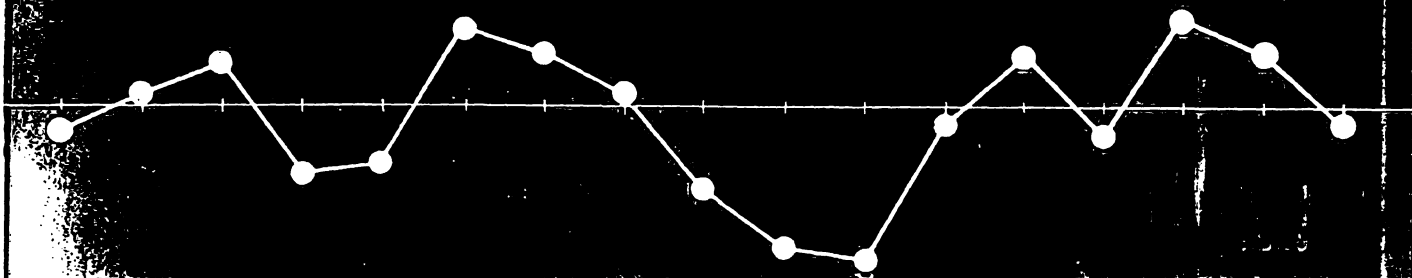
²⁾ Enzyme: GOT = Aspartattransaminase (EC 2.6.1.1), GPT = Alanintransaminase (EC 2.6.1.2), CK = Kreatinkinase (EC 2.7.3.2), LDH = Lactatdehydrogenase (EC 1.1.7.27), HBDH = α -Hydroxybutyratdehydrogenase (EC unbekannt), APh = Alkalische Phosphatase (EC 3.1.3.1), LAP = sog. Leucinaminopeptidase (Arylamidase) (EC unbekannt).

Qualitäts- kontrolle

mit

Versatol[®]

im klinisch-chemischen Labor



Überwachung von Präzision
und Richtigkeit
im normalen
und pathologischen Bereich

Bilirubin
Calcium
Chlorid
Freies Cholesterin
Gesamt-Cholesterin
Kreatinin
Glukose
Rest-N
Anorg. Phosphor
Eiweißgebundenes Jod
Kalium
Gesamt-Stickstoff
Gesamt-Eiweiß
Natrium
Harnstoff-N
Harnsäure
Alkalische Phosphatase
Saure Phosphatase
Amylase
Lipase
Transaminase GOT
Laktat-Dehydrogenase LDH

GÖDECKE

EEL-Automatisches Digital-Flammenphotometer

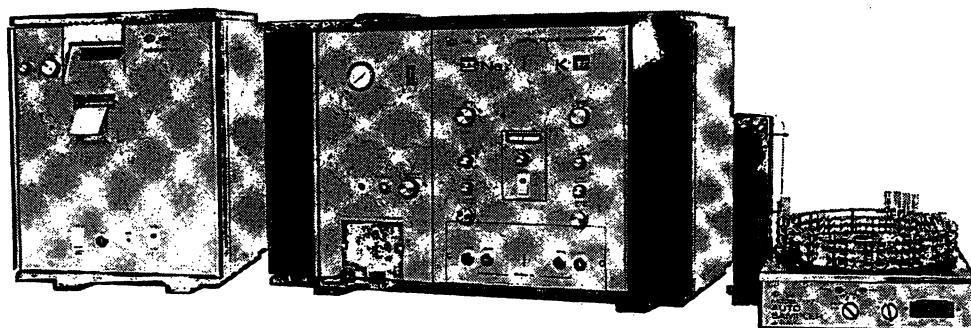
mit internem Li-Standard und automatischer Standardisierung

Das Gerät mißt simultan Na- und K-Werte in mval/L in einem 2-Kanal-System. Ein dritter Kanal dient zur Regelung mit einem internen Li-Standard.

Eine automatische Standardisierungseinheit ermöglicht, daß sich Na- und K-Standard selbstständig auf ihre Werte einstellen.

Der Probennehmer verdünnt die Proben und gibt durch markierte Standards dem Gerät die Signale zum automatischen standardisieren.

Der Drucker registriert mit laufender Probennummer die ermittelten Werte.



Unverbindliche
Demonstration
durch:

Ima GmbH & Co KG

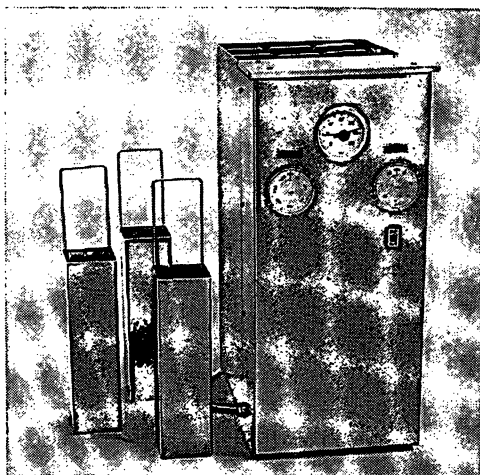
6300 Gießen, Marburger Straße 81

oder durch:

Ima GmbH & Co KG

Bezirksvertretung Günter Möller

4040 Neuss, Josefstraße 91



Heißlaugen-Pipettenspüler

Einwandfreie saubere Pipetten ohne Chrom-Schwefelsäure. Bis zu 500 Stück können automatisch auch über Nacht gereinigt und gespült werden.

Der elektronisch gesteuerte Spülgang garantiert den Wasserwechsel unabhängig vom Wasserdruck. Nachspülgang mit destilliertem Wasser. Zeitsteuerung für Heizen, Spülen und Nachspülen. Intensivspülgang mit Pausenzeitprogramm.

Entlasten Sie Ihr Spülpersonal!

Mit unserem bewährten Heißlaugen-Pipettenspüler ist es möglich.

H. HÖLZEL

Technische Geräte für das Labor in Forschung und Industrie

825 DORFEN — BERNÖDERWEG 7 — TELEFON (08081) 2069

München Analytica 70, Stand 2313, Halle 2



CARL SCHLEICHER & SCHÜLL
3354 DASSEL

SELECTRON

- CA-Elektrophoresefolien, ein ideales Trägermaterial für die elektrophoretische Trennung von Stoffgemischen
- Ultrahülsen und Apparaturen zur Einengung eiweißarmer Körperflüssigkeiten
- Filter mit verschiedenen Porengrößen zur Mikrofiltration

SELECTA

- Pulver, Streichsuspensionen, Fertigplatten und Fertigfolien zur Dünnschichtchromatographie

Informieren Sie sich bitte anlässlich der ANALYTICA an unserem Stand Nr. 3202 in Halle 3

Tab. 1
Methodische Angaben für die Aktivitätsbestimmung der 7 Enzyme

| | GOT ^{a)} | GPT | CK | LDH | HBDH | APh | LAP |
|----------------------------|-------------------|-----|--------|---------|---------|--------|--------|
| Serum (μl) | 100 | 100 | 20 | 50 | 50 | 20 | 50 |
| Puffer-Substrat (μl) | 500 | 500 | 500 | 500 | 500 | 1000 | 500 |
| Vorinkubation | 1—3 Min. | | 5 Min. | 30 Sek. | 30 Sek. | 0 Min. | 5 Min. |
| Wellenlänge (nm) | 334 | 334 | 334 | | | | |
| Temperatur (°C) | 25 | 25 | 25 | 25 | 25 | 25 | 25 |
| Spitzung (ΔE = 1,0 in cm) | 40 | 40 | 40 | 20 | 20 | 20 | 40 |
| Papiervorschub (cm/Min.) | 2 | 2 | 2 | 2 | 2 | 2 | 2 |
| Bestimmungen/Std. | | | | 50—60 | | | |
| Faktor (mU/ml bei α = 45°) | 50 | 50 | 217 | 333 | 333 | 275 | 55,6 |

Probe-Reagenz-Dosiereinheit oder Eppendorf-Mikropipetten und elektrischer Rührstab (Mikromix²⁾).

Arbeitsweise

Die wichtigsten methodischen Angaben sind in Tabelle 1 zusammengestellt. Sämtliche Enzyme werden kinetisch gemessen. Beide Transaminasen (22, 23), die Kreatinkinase (24) sowie die Lactat- (25) und α-Hydroxybutyratdehydrogenase (26) in Reaktionen, die mit NAD bzw. NADP gekoppelt sind. Bei der alkalischen Phosphatase (27) und Leucinaminopeptidase (28) hingegen wird direkt die Farbe des freigesetzten *p*-Nitrophenols bzw. *p*-Nitroanilins gemessen.

Die Bestimmungen werden im Mikrolitermaßstab durchgeführt. Das Ansetzen erfolgt in Halbmikroküvetten: das Serum wird mit dem täglich oder täglich zweimal frisch hergestellten Reagenzgemisch versetzt. Bei den Transaminasen und der alkalischen Phosphatase benutzen wir den Verdünnungsautomaten und bei den restlichen Enzymen die Mikropipetten.

Mit Ausnahme der Lactat- und α-Hydroxybutyratdehydrogenase wird die Aktivität der anderen Enzyme in der Küvettenwechselautomatik gemessen. Die Reaktionszeit beträgt 3×15 Sek. Die Aktivität der Lactat- und α-Hydroxybutyratdehydrogenase wird 60 Sek. lang fortlaufend registriert (29).

Die Aktivität wird graphisch aus dem sogenannten Enzymwinkel (α) nach der Formel:

$$\text{mU/ml} = \text{tg } \alpha \cdot F$$

errechnet (30), die entsprechenden Faktoren (F) sind in Tabelle 1 zusammengestellt. Die Methoden sind alle so ausgerichtet, daß insbesondere im Grenzbereich genau gemessen werden kann. Dafür wurde in Kauf genommen, daß man bei höheren Aktivitäten häufiger verdünnen muß.

Testseren

Folgende käufliche Testseren wurden verwendet: Kontrollserum-E⁴⁾, Chargen-Nr. 6308501, Boehringer Mannheim GmbH; Enza-trol, Lot No. ET-231 A, ET-232 C, ET-233 A und CPK Control, Lot No. CPK-17, Asid-Institut GmbH, München-Lohhof; Multi-Enzyme Reference Serums, Lot No. 3041—3046 E004A1, Hyland, Travenol International GmbH, München.

Die Testseren wurden jeden Montag mit der angegebenen Menge an bidest. Wasser gelöst und in 5 gleiche Portionen abgefüllt. Eine Portion wurde am selben Tag verbraucht und die restlichen 4 bei -20° eingefroren. Von Dienstag bis Freitag wurde jeden Tag eine Portion innerhalb von 5 Min. in einem Wasserbad von 25° aufgetaut und verwendet.

Berechnung der Präzision (31)

Die Präzision wurde jeweils mit dem Mittelwert (\bar{x}), der Standardabweichung (s) und dem Variationskoeffizienten (V) charakterisiert.

Mittelwert

$\sum x_i$: Summe der Einzelwerte

$$\bar{x} = \frac{\sum x_i}{n}$$

n : Anzahl der Bestimmungen

Präzision in der Serie und von Tag zu Tag

$$s = \sqrt{\frac{\sum (\bar{x} - x_i)^2}{n - 1}}$$

Präzision von Tag zu Tag aus Doppelbestimmungen bei Patientenserien

x_1 : Ergebnis am 1. Tag

x_2 : Ergebnis am 2. Tag

x_1, x_2 : eine Doppelbestimmung

m : Anzahl der Doppelbestimmungen

$$s = \sqrt{\frac{\sum (x_1 - x_2)^2}{2m}}$$

Variationskoeffizient

$$V = \frac{s}{\bar{x}} \cdot 100$$

Ausreißer

Als Ausreißer, d. h. grobe Fehler, haben wir die Ergebnisse betrachtet, die bei einem angenommenen V -Wert von 10% außerhalb des $\bar{x} \pm 3s$ -Bereichs liegen. Die Ursachen solcher Ausreißer sind meistens Verwechslungen. Da Verwechslungen von der Methode vollkommen unabhängig sind und schon einige die V -Werte auch großer Serien grundlegend verfälschen können, wurden sie bei den Berechnungen nicht berücksichtigt.

Ergebnisse

Testseren

Die Haltbarkeit der aufgelösten Testseren

Die Haltbarkeit der aufgelösten Testseren wurde bei +4°, -20° und bei Raumtemperatur geprüft. Die Behandlung der Seren erfolgte wie oben beschrieben. Die Ergebnisse sind in Tabelle 2 und 3 zusammengestellt. Bei -20° war die Stabilität der Enzyme über 5 Tage befriedigend. Dasselbe kann man für +4° nur bis zum 2. Tag uneingeschränkt behaupten. Darüber hinaus waren insbesondere bei den Transaminasen, der Lactat- und α-Hydroxybutyratdehydrogenase erhebliche Ak-

Tab. 2

Die Haltbarkeit der aufgelösten Testseren. Die Angaben sind Mittelwerte (mU/ml), bei +4° von 6 Wochen und bei -20° von 18—24 Wochen

| | | Tag 1 | Tag 2 | Tag 3 | Tag 4 | Tag 5 |
|--------------------|------|-------|-------|-------|-------|-------|
| GOT ^{a)} | + 4° | 34,6 | 35,4 | 37,5 | 36,1 | 35,0 |
| | -20° | 35,2 | 35,2 | 35,2 | 36,1 | 35,6 |
| GOT ^{b)} | + 4° | 38,4 | 37,4 | 34,1 | 31,1 | 28,1 |
| | -20° | 37,8 | 38,4 | 37,0 | 38,8 | 37,5 |
| GPT ^{a)} | + 4° | 31,1 | 31,6 | 30,4 | 31,2 | 31,6 |
| | -20° | 30,1 | 29,8 | 31,4 | 31,0 | 31,2 |
| GPT ^{b)} | + 4° | 36,8 | 37,3 | 33,0 | 34,3 | 31,4 |
| | -20° | 37,7 | 36,4 | 38,1 | 37,8 | 38,1 |
| CK ^{c)} | + 4° | 138 | 137 | 142 | 132 | 142 |
| | -20° | 139 | 141 | 134 | 138 | 137 |
| LDH ^{a)} | + 4° | 171 | 168 | 165 | 167 | 164 |
| | -20° | 165 | 173 | 169 | 175 | 171 |
| LDH ^{b)} | + 4° | 383 | 357 | 343 | 343 | 317 |
| | -20° | 376 | 379 | 374 | 368 | 372 |
| HBDH ^{a)} | + 4° | 126 | 126 | 123 | 128 | 120 |
| | -20° | 122 | 130 | 128 | 125 | 124 |
| HBDH ^{b)} | + 4° | 197 | 196 | 189 | 180 | 168 |
| | -20° | 192 | 197 | 197 | 192 | 189 |
| APh ^{b)} | + 4° | 220 | 225 | 236 | 226 | 228 |
| | -20° | 220 | 232 | 230 | 255 | 236 |

^{a)} Kontrollserum E

^{b)} Enza-trol

^{c)} CPK Control

³⁾ Eppendorf-Gerätebau, Netheler-Hinz GmbH, Hamburg.

⁴⁾ Kontrollserum-E ist inzwischen unter den Namen Precinorm E und Precipath E im Handel.

Tab. 3

Die Haltbarkeit der aufgelösten Testseren bei Raumtemperatur. Die Angaben sind Mittelwerte (mU/ml) von Doppelbestimmungen

| | Stunden nach der Auflösung | | | | | | |
|---------------------|----------------------------|------|------|------|------|------|------|
| | 0 | 1 | 2 | 3 | 4 | 6 | 24 |
| GOT ^a) | 40,5 | 39,1 | 38,7 | 39,1 | 39,6 | 40,5 | 40,5 |
| GOT ^b) | 42,0 | 43,5 | 42,0 | 43,5 | 42,0 | 42,0 | 35,0 |
| GPT ^a) | 33,7 | 32,4 | 31,2 | 32,4 | 32,4 | 31,2 | 26,1 |
| GPT ^b) | 42,0 | 43,5 | 43,5 | 43,5 | 43,5 | 42,0 | 32,8 |
| CK ^c) | 300 | 249 | 225 | 206 | 195 | 182 | 125 |
| CK ^d) | 444 | 360 | 333 | 303 | 287 | 249 | 224 |
| LDH ^a) | 162 | 168 | 162 | 170 | 170 | 168 | 163 |
| LDH ^b) | 439 | 442 | 442 | 439 | 442 | 439 | 434 |
| HBDH ^a) | 121 | 125 | 122 | 121 | 121 | 128 | 120 |
| HBDH ^b) | 228 | 225 | 225 | 230 | 225 | 233 | 225 |
| Aph ^b) | 199 | 199 | 205 | 203 | 199 | 192 | 199 |

^a Kontrollserum-E

^b Enza-trol

^c CPK Control

^d Multi Enzyme Reference Serum

tivitätsverluste zu verzeichnen. Die alkalische Phosphatase und die Kreatinkinase waren dagegen stabil (Tab. 2). Wie weit sich die Stabilität der Enzyme auch von Charge zu Charge ändert, können wir aufgrund unserer Untersuchungen nicht beantworten.

Die aufgelösten Testseren können bei Aufbewahrung bei Raumtemperatur innerhalb von 6, manche sogar bis zu 24 Stunden verwendet werden. Eine Ausnahme bildet lediglich die Kreatinkinase. Bei diesem Enzym ist bereits nach einer Stunde ein deutlicher Aktivitätsverlust zu beobachten (Tab. 3). Die Stabilität der Enzyme bei Raumtemperatur ist sowohl in den frisch aufgelösten als auch in den bei Kälte (+4° und -20°) bis zu einer Woche gelagerten Testseren dieselbe.

Einen Sonderfall stellt die alkalische Phosphatase dar: ihre Aktivität nimmt in den ersten Stunden nach der Auflösung zu, bleibt jedoch dann unverändert. Die Aktivitätszunahme ist von Testserum zu Testserum unterschiedlich. Demnach können die Testseren erst nach der Erreichung der vollen Aktivität der alkalischen Phosphatase verwendet werden. Dieses Phänomen wird zur Zeit untersucht und es wird darüber an anderer Stelle eingehend berichtet werden.

Präzision in der Serie

Die Aktivität der einzelnen Enzyme in den Testseren wurde von je 2 Assistentinnen jeweils 18mal bestimmt. Insgesamt 6 Assistentinnen beteiligten sich an diesen Untersuchungen.

Die Ergebnisse sind in Tabelle 4 zusammengestellt. Der Variationskoeffizient bewegt sich zwischen 2—7%, überwiegend war er sogar weniger als 5%. Es muß hinzugefügt werden, daß es sich vornehmlich um Testseren mit mäßig erhöhter Aktivität handelt, um einen Bereich also, in dem eine relativ gute Präzision erreichbar ist.

Präzision von Tag zu Tag

Je Enzym wurden 3—5 Testseren bei diesen Untersuchungen verwendet. Die Zahl der Bestimmungen bei den einzelnen Testseren bewegte sich zwischen 14—111. Die Ergebnisse sind in Tabelle 5 zusammengestellt. Der Variationskoeffizient beträgt 5—17%. Die Präzision von Tag zu Tag ist demnach 2—3mal schlechter als die Präzision in der Serie.

Tab. 4

Die Präzision in der Serie bei käuflichen Testseren. Die Angaben sind Mittelwerte von jeweils 18 Einzelbestimmungen

| | MTA | \bar{x} (mU/ml) | $\pm s$ (mU/ml) | V (%) |
|---------------------|-----|----------------------|--------------------|----------|
| GOT ^a) | 1 | 35,2 | 0,84 | 2,38 |
| | 2 | 34,9 | 0,68 | 1,95 |
| GOT ^b) | 1 | 37,5 | 1,22 | 3,25 |
| | 2 | 35,9 | 2,16 | 6,02 |
| GPT ^a) | 1 | 29,4 | 1,57 | 5,34 |
| | 2 | 28,6 | 1,03 | 3,60 |
| GPT ^b) | 1 | 37,6 | 0,96 | 2,55 |
| | 2 | 38,0 | 0,92 | 2,42 |
| CK ^d) | 1 | 83,9 | 3,85 | 4,59 |
| | 3 | 83,4 | 3,56 | 4,27 |
| CK ^c) | 5 | 214 | 14,7 | 6,86 |
| | 6 | 209 | 13,5 | 6,45 |
| CK ^d) | 1 | 379 | 8,22 | 2,17 |
| | 3 | 344 | 15,5 | 4,51 |
| LDH ^a) | 1 | 141 | 4,00 | 2,84 |
| | 3 | 150 | 10,1 | 6,70 |
| LDH ^d) | 1 | 273 | 9,22 | 3,38 |
| | 3 | 274 | 9,70 | 3,54 |
| LDH ^b) | 1 | 442 | 17,1 | 3,86 |
| | 3 | 435 | 11,9 | 2,74 |
| HBDH ^a) | 1 | 109 | 6,05 | 5,55 |
| | 3 | 113 | 6,06 | 5,36 |
| HBDH ^d) | 1 | 206 | 8,05 | 3,90 |
| | 3 | 201 | 12,9 | 6,41 |
| HBDH ^b) | 1 | 231 | 9,19 | 3,98 |
| | 3 | 240 | 6,49 | 2,70 |
| Aph ^d) | 1 | 66,5 | 3,13 | 4,71 |
| | 4 | 70,9 | 2,33 | 3,28 |
| Aph ^b) | 1 | 198 | 6,63 | 3,35 |
| | 4 | 197 | 3,33 | 1,69 |

^a Kontrollserum-E

^b Enza-trol

^c CPK Control

^d Multi Enzyme Reference Serum

Tab. 5

Die Präzision von Tag zu Tag bei käuflichen Testseren

| | Anzahl der Bestimmungen | \bar{x} (mU/ml) | $\pm s$ (mU/ml) | V (%) |
|-----------------------|----------------------------|----------------------|--------------------|----------|
| GOT ^a) | 109 | 35,1 | 2,65 | 7,55 |
| GOT ^b) | 38 | 35,6 | 4,00 | 11,2 |
| GOT ^{bb}) | 66 | 38,0 | 3,47 | 9,13 |
| GPT ^a) | 103 | 29,8 | 4,10 | 13,8 |
| GPT ^b) | 41 | 34,2 | 4,41 | 12,9 |
| GPT ^{bb}) | 65 | 37,7 | 4,60 | 12,2 |
| CK ^d) | 20 | 60,7 | 8,40 | 13,9 |
| CK ^c) | 93 | 138 | 23,0 | 16,6 |
| CK ^{dd}) | 14 | 266 | 29,3 | 11,0 |
| CK ^{ddd}) | 20 | 604 | 48,7 | 8,07 |
| LDH ^d) | 19 | 133 | 14,6 | 11,0 |
| LDH ^a) | 111 | 162 | 18,4 | 8,00 |
| LDH ^{bbb}) | 48 | 348 | 31,1 | 8,93 |
| LDH ^b) | 41 | 416 | 53,2 | 12,8 |
| LDH ^{ddd}) | 19 | 600 | 32,5 | 5,41 |
| HBDH ^d) | 19 | 97,0 | 16,0 | 16,5 |
| HBDH ^a) | 110 | 128 | 13,6 | 10,6 |
| HBDH ^{bbb}) | 48 | 186 | 18,4 | 9,89 |
| HBDH ^b) | 41 | 210 | 31,1 | 14,8 |
| HBDH ^{ddd}) | 20 | 464 | 37,2 | 8,01 |
| Aph ^d) | 19 | 55,5 | 8,17 | 14,7 |
| Aph ^{dd}) | 14 | 85,6 | 10,1 | 11,8 |
| Aph ^{ddd}) | 20 | 138 | 16,1 | 11,6 |
| Aph ^{bb}) | 20 | 188 | 26,4 | 14,0 |
| Aph ^{bbb}) | 48 | 288 | 29,3 | 10,1 |

^a Kontrollserum-E

^b Enza-trol Lot No. 231 A

^{bb} Enza-trol Lot No. 232 C

^{bbb} Enza-trol Lot No. 233 A

^d Multi Enzyme Reference Serum Lot No. 3041 u. 3044E004A1

^{dd} Multi Enzyme Reference Serum Lot No. 3042 u. 3045E004A1

^{ddd} Multi Enzyme Reference Serum Lot No. 3043 u. 3046E004A1

Vergleiche mit den Angaben der Hersteller

Der Vergleich unserer Mittelwerte mit den Angaben der Hersteller war nur beim Kontrollserum E sinnvoll. Bei diesem Testserum wurden nämlich die Aktivitäten sowohl vom Hersteller als auch von uns mit derselben Testzusammenstellung ermittelt. Die Abweichungen vom angegebenen Wert der Hersteller bewegen sich zwischen 2—3%, lediglich bei der Lactatdehydrogenase fanden wir eine 8% höhere Aktivität (Tab. 6). Diese

Tab. 6

Die Wiederfindung der vom Hersteller angegebenen Aktivität bei Kontrollserum-E. Die ermittelte Aktivität ist der Mittelwert von 103—111 Tagen

| | Angabe des Herstellers (mU/ml) | Ermittelte Aktivität (mU/ml) | Abweichung (%) |
|-------------------|--------------------------------|------------------------------|----------------|
| GOT ^{a)} | 36,0 | 35,1 | -2,5 |
| GPT | 29,0 | 29,8 | +2,5 |
| LDH | 150 | 162 | +8,0 |
| HBDH | 124 | 128 | +3,2 |

Abweichung ist wahrscheinlich dadurch bedingt, daß wir bei der Lactatdehydrogenase die Anfangsaktivität (zwischen 30 und 90 Sek.) messen, in einem Bereich also, wo die Inhibitorwirkung (32) noch unwesentlich ist.

Patientenserum

Die Stabilität der Enzyme

Die Mittelwerte der Enzymaktivitäten in sämtlichen Seren wurden für den Tag, an dem die Blutentnahme erfolgte, sowie für den nächsten Tag errechnet. Die Aufbewahrung der Seren erfolgte bei +4°. Die Ergebnisse sind in Tabelle 7 zusammengestellt.

Die Aktivitätsabnahme war bei beiden Transaminasen am größten (6%), gefolgt von der alkalischen Phosphatase (3%) und den beiden Dehydrogenasen (2%). Bei der Leucinaminopeptidase war kein Aktivitätsverlust zu verzeichnen und die Aktivität der Kreatinkinase nahm sogar um 1% zu.

Der Aktivitätsverlust geht auf Kosten der Seren mit deutlich erhöhter Aktivität. Wenn man nur die Seren mit normaler oder gering erhöhter Enzymaktivität berücksichtigt (Tab. 7), so ändert sich die Aktivität am 2. Tag um maximal 2—3%, was innerhalb der methodischen Streuung liegen dürfte.

Tab. 7

Die Stabilität der Enzyme in Patientenserum während 24 Std. bei +4°

| | Anzahl der Seren | Alle Seren | | | | Seren mit normaler und gering erhöhter Aktivität | | |
|-------------------|------------------|------------|-------|---------------------|-----|--|-------|---------------------|
| | | Tag 1 | Tag 2 | Tag 2 / Tag 1 · 100 | | Tag 1 | Tag 2 | Tag 2 / Tag 1 · 100 |
| GOT ^{a)} | 282 | 26,6 | 24,9 | 94 | 169 | 12,0 | 12,0 | 100 |
| GPT | 275 | 21,3 | 19,9 | 94 | 188 | 10,5 | 10,3 | 98 |
| CK | 212 | 48,3 | 48,9 | 101 | 173 | 22,1 | 22,7 | 102 |
| LDH | 231 | 233 | 229 | 98 | 156 | 164 | 169 | 103 |
| HBDH | 184 | 166 | 163 | 98 | 142 | 118 | 119 | 101 |
| APh | 299 | 232 | 226 | 97 | 181 | 133 | 135 | 102 |
| LAP | 235 | 26,9 | 27,0 | 100 | 157 | 18,6 | 18,9 | 102 |

Tab. 8

Die Präzision von Tag zu Tag bei Patientenserum

| | | GOT ^{a)} | GPT | CK | LDH | HBDH | APh | LAP |
|-------------------------------------|---------------------------------|-------------------|------|------|------|------|------|------|
| Seren mit normaler Aktivität | Anzahl der Datenpaare | 57 | 91 | 107 | 66 | 79 | 75 | 66 |
| | \bar{x} (mU/ml) | 7,7 | 6,9 | 9,3 | 134 | 98,8 | 97,6 | 13,5 |
| | $\pm s$ (mU/ml) | 1,60 | 1,41 | 3,87 | 15,0 | 11,1 | 9,71 | 2,20 |
| | V (%) | 20,8 | 20,4 | 41,6 | 11,2 | 11,2 | 9,98 | 16,3 |
| Seren mit Aktivität im Grenzbereich | Anzahl der Datenpaare | 112 | 97 | 66 | 90 | 63 | 106 | 91 |
| | \bar{x} (mU/ml) | 14,2 | 14,0 | 42,1 | 185 | 142 | 158 | 22,3 |
| | $\pm s$ (mU/ml) | 1,31 | 2,13 | 5,38 | 20,4 | 17,8 | 11,8 | 2,77 |
| | V (%) | 9,30 | 15,2 | 12,8 | 11,0 | 12,5 | 7,01 | 12,4 |
| Seren mit erhöhter Aktivität | Anzahl der Datenpaare | 113 | 87 | 39 | 75 | 42 | 118 | 78 |
| | \bar{x} (mU/ml) | 51,9 | 44,7 | 164 | 378 | 330 | 384 | 43,5 |
| | $\pm s$ (mU/ml) | 7,04 | 8,14 | 20,7 | 31,5 | 36,4 | 37,2 | 5,37 |
| | V (%) | 13,6 | 18,2 | 12,6 | 8,32 | 11,0 | 9,70 | 12,3 |
| Alle Seren | Anzahl der Datenpaare insgesamt | 282 | 275 | 212 | 231 | 184 | 299 | 235 |

Präzision von Tag zu Tag

Die Seren wurden in 3 Gruppen unterteilt: Seren mit normaler Enzymaktivität, Seren mit Enzymaktivitäten im Grenzbereich und Seren mit deutlich erhöhter Enzymaktivität. Sehr hohe Aktivitäten, bei denen die Bestimmung nur im vorverdünnten Serum durchgeführt werden konnte, waren im Untersuchungsgut nicht enthalten. Die Ergebnisse sind aus Tabelle 8 zu entnehmen.

Die Präzision ist bei normaler Aktivität der Transaminasen ($V = 20-21\%$) und der Kreatinkinase ($V = 41,6\%$) ausgesprochen schlecht, wird jedoch bei Aktivitäten im Grenzbereich und bei erhöhten Werten wesentlich besser. Auffallend ist die unterschiedliche Präzision der beiden Transaminasen: die der Aspartattransaminase ist deutlich besser. Die Abhängigkeit der Präzision von der Höhe der Aktivität ist bei den anderen 4 Enzymen weniger ausgeprägt.

Die V-Werte liegen im diagnostisch interessantesten Grenzbereich, mit Ausnahme der Alanintransaminase ($V = 15,2\%$) zwischen 7 und 13%.

Präzision bei Seren mit bekannter und unbekannter Enzymaktivität

Testserum

Die Enzymaktivität in einem Testserum wurde in einer zweiten Periode über 7 Wochen lang bestimmt, wobei den Untersuchern der Sollwert bekannt war. Die so erhaltenen Ergebnisse sind in Tabelle 9 mit denen der ersten Periode verglichen, in der die Untersucher nicht wußten, daß es sich um Testserum handelt. Die Präzision war mit Ausnahme der Aspartattransaminase bei bekannten Sollwerten wesentlich besser als bei unbekannten. Ebenso kam in der zweiten Periode überhaupt kein

Tab. 9
Die Präzision von Tag zu Tag bei einem Testserum mit unbekannter (Periode I) und bekannter (Periode II) Enzymaktivität

| | Periode | Anzahl der Bestimmungen | \bar{x} (mU/ml) | $\pm s$ (mU/ml) | V (%) |
|--------------------|---------|-------------------------|-------------------|-----------------|-------|
| GOT ^a) | I | 109 | 35,1 | 2,65 | 7,57 |
| | II | 36 | 34,6 | 2,76 | 8,00 |
| GPT | I | 103 | 29,8 | 4,10 | 13,8 |
| | II | 36 | 28,9 | 3,16 | 10,9 |
| LDH | I | 111 | 162 | 18,4 | 11,4 |
| | II | 34 | 156 | 8,68 | 5,56 |
| HBDH | I | 110 | 128 | 13,6 | 10,6 |
| | II | 33 | 121 | 8,69 | 7,20 |

Ausreißer vor; ohne Bekanntgabe der Identität hingegen lag der Anteil an Ausreißern bei 2—3%.

Patientenseren

Ähnlich wie bei den Testseren wurden in einer zweiten Periode die Wiederholungen vom Vortag ohne Verschlüsselung durchgeführt, d. h. der Wert vom Vortag war den Untersuchern bekannt. Die Ergebnisse der beiden Perioden, jeweils für Aktivitäten im Grenzbereich,

Tab. 10
Die Präzision von Tag zu Tag bei Patientenseren mit unbekannter (Periode I) und bekannter (Periode II) Enzymaktivität

| | Periode | Anzahl der Datenpaare | \bar{x} (mU/ml) | $\pm s$ (mU/ml) | V (%) |
|--------------------|---------|-----------------------|-------------------|-----------------|-------|
| GOT ^a) | I | 112 | 14,2 | 1,31 | 9,30 |
| | II | 74 | 16,2 | 1,26 | 7,76 |
| GPT | I | 97 | 14,0 | 2,13 | 15,2 |
| | II | 71 | 15,6 | 1,30 | 8,33 |
| CK | I | 66 | 42,1 | 5,38 | 12,8 |
| | II | 70 | 45,2 | 5,63 | 12,4 |
| LDH | I | 90 | 185 | 20,4 | 11,0 |
| | II | 67 | 187 | 10,8 | 5,78 |
| HBDH | I | 63 | 142 | 17,8 | 12,5 |
| | II | 43 | 150 | 6,12 | 4,09 |
| APh | I | 106 | 158 | 11,8 | 7,01 |
| | II | 74 | 184 | 8,63 | 4,70 |
| LAP | I | 91 | 22,3 | 2,77 | 12,4 |
| | II | 75 | 24,1 | 1,61 | 6,70 |

sind in Tabelle 10 dargestellt. Die Präzision der zweiten Periode war wesentlich besser. Eine Ausnahme bildete lediglich die Kreatinkinase.

Diskussion

Unsere Ergebnisse erlauben folgende Rückschlüsse:

1. Bei entsprechend ausgewählten Meßbedingungen ist eine Präzision von 2—6% bei Enzymaktivitätsbestimmungen erreichbar. Die erreichbare Präzision wurde mit der Präzision in der Serie gleichgesetzt.
2. Die Präzision in der Routine (Präzision von Tag zu Tag) ist durchschnittlich mit einem Faktor von 2—3 schlechter als die Präzision in der Serie. Eine Präzision von Tag zu Tag ist demnach unter 10% ausgesprochen gut und zwischen 10—15% noch vertretbar.
3. Die Präzision ist vom Aktivitätsbereich abhängig. Ganz allgemein ist die Präzision bei der graphischen Auswertung unter einem Winkel von 10° schlecht, ebenso über 60°. Von dieser Tatsache sind vor allem Enzyme betroffen (Tab. 8), deren untere Grenze des Normbereichs bei 0 mU/ml (Kreatinkinase) oder nur gering höher liegt (Transaminasen).
4. Präzision und Meßbereich sind zueinander umgekehrt proportional. So ließe sich z. B. bei der Kreatinkinase

die Präzision deutlich verbessern, wenn man statt 20 μ l Serum 50 μ l einsetzen würde. Dabei würde sich jedoch der Meßbereich, in dem ohne Verdünnung der Seren gearbeitet werden kann, von 0—400 mU/ml auf 0—160 mU/ml verringern.

5. Die Präzision ist nur dann für eine Methode repräsentativ, wenn die Identität der Kontrollprobe dem Untersucher unbekannt bleibt. In unseren Untersuchungen waren bei Kontrollproben mit unbekannter Aktivität 2mal höhere V-Werte als bei bekannter Aktivität keine Seltenheit (Tab. 9 und 10). Dieses Phänomen ist in der Literatur bereits beschrieben worden (16, 33).

Nach unseren Erfahrungen ist folgendes Minimalprogramm für die Qualitätskontrolle im Enzymlaboratorium zu empfehlen:

1. Für sämtliche Enzyme mindestens ein Testserum mit bekannter Aktivität. Dieses Testserum kann ein käufliches oder selbsthergestelltes Serum sein, auf die Haltbarkeit ist aber zu achten. Wir nehmen zu diesem Zweck käufliche Testseren; sie werden am Montag aufgelöst, in 6 Portionen abgefüllt, eingefroren, von Dienstag bis Samstag aufgetaut, tagsüber einheitlich im Kühlschrank bei +4° aufbewahrt und die Aktivität der Enzyme täglich 2mal, morgens und nachmittags, gemessen. Mit diesen Testseren überprüfen die Assistentinnen selbst ihre Geräte (entsprechende Einstellung, Filter, Temperatur), Pipetten und die Lösungen. Die Aktivität der Testseren muß in jedem Fall selbst ermittelt werden. Es ist deshalb sinnvoll, die gleiche Charge von einem Testserum über längere Zeit zu verwenden (3—6 Monate). Der Vorteil von käuflichen Testseren, bei denen die ermittelte Aktivität mit den Angaben der Hersteller übereinstimmt, liegt insbesondere für kleinere Laboratorien auf der Hand (34).

Diese Untersuchungen sind zur Vermeidung von systematischen Fehlern unerlässlich und bürgen somit für die Richtigkeit der Messungen. Sie sollten vor Beginn der Analysenserie durchgeführt werden und gegebenenfalls zu entsprechenden Korrekturen veranlassen.

2. Für jedes Enzym sollte mindestens ein Patientenseren am nächsten Tag noch einmal analysiert werden, möglichst ohne Bekanntgabe der Identität. Wir ziehen Seren mit ungewöhnlichem Enzymmuster vor; unglaubliche Konstellationen werden bereits am selben Tag wiederholt.

Diese Wiederholungen vom Vortag kann man als Stichproben auffassen, sie fördern erheblich die Präzision, d. h. sorgfältigeres Arbeiten. Eine Gewähr für Richtigkeit sind sie nicht, man kann die Aktivität vom Vortag keineswegs als Sollwert auffassen.

Über die zwingende Notwendigkeit von Kontrollen mit unbekannten Proben müssen die Assistentinnen vorher unterrichtet werden, um eine aufgeschlossene Mitarbeit zu erreichen.

Die technische Durchführung der Qualitätskontrolle wurde von Fr. E. KINNE organisiert. Bei der statistischen Auswertung war Fr. E.-B. NITTEL behilflich. Beiden sei auch an dieser Stelle gedankt.

Literatur

1. LEVEY, S. und E. R. JENNINGS, *Amer. J. Clin. Path.* 20, 1059 (1950). — 2. BÜTTNER, H. und D. STAMM, *diese Z.* 4, 303 (1966). — 3. CAMPBELL, D. G. und J. A. OWEN, *Clin. Biochem.* 1, 3 (1967). — 4. COPPELAND, B. E., W. J. BLAKE, R. J. MUELLING und L. P. SKENDZEL, *Amer. J. Clin. Path.* 48, 104 (1967). — 5. BARNETT, R. N., *Amer. J. Clin. Path.* 50, 671 (1968). — 6. ELDJARN, L., *Z. analyt. Chem.* 243, 766 (1968). — 7. GRAVESEN, K. J., *Z. analyt. Chem.* 243, 732 (1968). — 8. KILGARIFF, M. und J. A. OWEN, *Clin. chim. Acta (Amsterdam)* 19, 175 (1968). — 9. LOGAN, J. E. und R. H. ALLEN, *Clin. Chem. (New York)* 14, 437 (1968). — 10. RUDY, J. L., *Clin. Chem. (New York)* 14, 583 (1968). — 11. BÜTTNER, H., *diese Z.* 7, 89 (1969). — 12. STAMM, D. und H. BÜTTNER, *diese Z.* 7, 393 (1969). — 13. STRAUMFJORD, J. V., jr. und B. E. COPELAND, *Amer. J. Clin. Path.* 44, 252 (1965). — 14. SAX, S. M., L. DORMAN, D. D. LIBENSON und J. J. MOORE, *Clin. Chem. (New York)* 13, 825 (1967). — 15. TONKS, D. B., *Z. analyt. Chem.* 243, 760 (1968). — 16. ALLEN, J. R., R. EARP, E. C. FARELL, jr. und H. D. GRÜMER, *Clin. Chem. (New York)* 15, 1039 (1969). — 17. BOWERS, G. N., jr., M. L. KELLEY und R. B. McCOMB, *Clin. Chem. (New York)* 13, 595 (1967). — 18. COOPER, G. R., *Z. analyt. Chem.* 243, 816 (1968). — 19. FREI, J., *Z. analyt. Chem.* 243, 770 (1968). — 20. WILKINSON, J. H., J. H. BOUTWELL und S. WINSTEN, *Clin. Chem. (New York)* 15, 487 (1969). — 21. WINSTEN, S., J. H. WILKINSON und J. H. BOUTWELL, *Clin. Chem. (New York)* 15, 496 (1969). — 22. KARMEN, A., *J. Clin. Invest.* 34, 131 (1955). — 23. WRÓBLEWSKI, F. und J. S. LADUE, *Proc. Soc. Exper. Biol. Med., N. Y.* 91, 569 (1956). — 24. SZASZ, G., E.-W. BUSCH und H.-B. FAROHS, *Dtsch. med. Wschr. (im Druck)*. — 25. WRÓBLEWSKI, F. und J. S. LADUE, *Proc. Soc. Exper. Biol. Med. N. Y.* 90, 210 (1955). — 26. ROSALKI, S. B. und J. H. WILKINSON, *Nature, London* 188, 1110 (1960). — 27. HAUSAMEN, T.-U., R. HELGER, W. RICK und W. GROSS, *Clin. chim. Acta (Amsterdam)* 15, 241 (1967). — 28. SZASZ, G., *Amer. J. Clin. Path.* 47, 607 (1967). — 29. SZASZ, G., *diese Z.* 7, 213 (1969). — 30. WEBER, H. und R. RICHTERICH, *Klin. Wschr.* 41, 665 (1963). — 31. DOERR, P. und D. STAMM, *diese Z.* 6, 304 (1968). — 32. HÄRTEL, A., R. HELGER und H. LANG, *diese Z.* 6, 259 (1968). — 33. GOWENLOCK, A. H. und P. M. G. BROUGHTON, *Z. analyt. Chem.* 243, 774 (1968). — 34. RADIN, N., *Clin. Chem. (New York)* 13, 55 (1967).

Dr. G. Szasz
6300 Gießen
Klinikstraße 32b